

EXPRESS MAIL NO.  
EV889161122US

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-114704

(P2002-114704A)

(43) 公開日 平成14年4月16日 (2002.4.16)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームコード (参考)
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
45/00		A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 1/00		1/02	
1/02		17/00	
17/00		31/04	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2000-300693 (P2000-300693)	(71) 出願人	000006116 森永製菓株式会社 東京都港区芝5丁目33番1号
(22) 出願日	平成12年9月29日 (2000.9.29)	(72) 発明者	西村 栄作 神奈川県横浜市鶴見区下末吉二丁目一番一 号 森永製菓株式会社研究所内
特許法第30条第1項適用申請有り 平成12年4月25日 日本細菌学会発行の「日本細菌学雑誌 第55巻第2号」 に発表		(72) 発明者	加藤 正俊 神奈川県横浜市鶴見区下末吉二丁目一番一 号 森永製菓株式会社研究所内
		(74) 代理人	100064908 弁理士 志賀 正武 (外6名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗菌剤

(57) 【要約】

【課題】 虫歯や歯周病等の原因となる口腔内細菌等に対して有効な抗菌活性を示すヒト由来の抗菌剤、及びかかる抗菌剤を用いた殺菌方法の提供。

【解決手段】 抗菌性ペプチドを有効成分とするレンサ球菌群に対する抗菌剤；及びかかる抗菌剤を用いることを特徴とするレンサ球菌群の殺菌方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 抗菌性ペプチドを有効成分とするレンサ球菌群に対する抗菌剤。

【請求項2】 レンサ球菌群が、肺炎レンサ球菌、化膿レンサ球菌、蝕肉性レンサ球菌、ストレプトコッカス・ゴルドニイ (*Streptococcus gordonii*)、ストレプトコッカス・サンギウス (*S. sanguis*)、ストレプトコッカス・クリセトゥス (*S. cricetus*)、ストレプトコッカス・ラトゥス (*S. rattus*)、ストレプトコッカス・サリバリウス (*S. salivarius*) からなる群より選ばれた1種以上である請求項1記載の抗菌剤。

【請求項3】 抗菌性ペプチドが、ヒト $\beta$ -ディフェンシン-2である請求項1又は2記載の抗菌剤。

【請求項4】 さらに、プロテアーゼ阻害剤を含有する請求項1〜3のいずれか1項記載の抗菌剤。

【請求項5】 プロテアーゼ阻害剤が、セリンプロテアーゼインヒビターである請求項4項記載の抗菌剤。

【請求項6】 請求項1〜5のいずれか1項記載の抗菌剤を用いることを特徴とするレンサ球菌群の殺菌方法。

【請求項7】 請求項4又は5記載の抗菌剤を用いることを特徴とするストレプトコッカス・アンギノサス (*S. anginosus*)、ストレプトコッカス・コンステラータス (*S. constellatus*)、ストレプトコッカス・インターメディアウス (*S. intermedius*) 又はストレプトコッカス・ミティス (*S. mitis*) の殺菌方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、抗菌性ペプチドを有効成分とするレンサ球菌群に対する抗菌剤及びかかる抗菌剤を用いたレンサ球菌群の殺菌方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 ディフェンシン (Defensin) と総称される哺乳動物の抗菌性ペプチドは、粘膜表層の生体防御において重要な役割を担っている。感染に対する自然免疫の重要な要素であるこれらのペプチドは、食細胞や上皮細胞など数種の細胞で産出され、様々な構造上の多様性を有している。

【0003】 ディフェンシンファミリーは、6個のシステイン残基が3対の分子内ジスルフィド結合を形成するカチオン性のペプチドとして特徴づけられている。これらのシステイン残基のジスルフィド結合の組合せにより、ヒトディフェンシンファミリーは、 $\alpha$ -及び $\beta$ -の2種のサブファミリーに分類される。1985年にGanzら (J. Clin. Invest.) により初めて見出されたヒト $\alpha$ -ディフェンシンについては、現在6個の異なる分子が報告されている (Lehrer, Annu. Rev. Immunol. 1993; Martin, J. Leukoc. Biol. 1995)。ヒトニュートロフィルペプチド (Human neutrophil peptide) -1〜4 (HNP-1〜4) と称される4分子は、アズール顆粒に局在する。ヒトディフェンシン-5、-6 (HD-5、-6) と称される2種の $\alpha$ -

ディフェンシンは、腸管のパネス (Paneth) 細胞の分泌顆粒や女性のゲニタルトラクト (genital tract) の上皮細胞に存在する (Quayle, Am. J. Pathol. 1998、特表平7-507213号公報)。

【0004】 1995年には、 $\alpha$ -ディフェンシンとは構造上異なったヒトディフェンシンがヘモフィルトレート (hemofiltrate) から分離され (Bensch, FEBS Lett. 1995)、 $\beta$ -ディフェンシンと名づけられた。ヒト $\beta$ -ディフェンシン-1 (hBD-1) は、腎臓、脾臓、尿管、気道、その他数種の上皮組織で構成的に発現されていることが知られている (Zhao, FEBS Lett. 1996; McCray, A. M. J. Respir. 1997; Valore, Cell Mol. Biol. 1998; Bensch, J. Clin. Invest. 1995; Goldman, Cell 1997)。また、41アミノ酸残基から成るシステインリッチのカチオン性ペプチドであるヒト $\beta$ -ディフェンシン-2 (hBD-2) は、1997年にヒト皮膚より見出され (Harder, Nature 1997)、後に肺、口腔粘膜、唾液などにも存在することが確認されている。hBD-2は、生体が細菌や炎症性のサイトカインに曝された際に著しく誘導的に発現されることが報告されている (Harder, Nature 1997; Singh, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998; Bals, J. Clin. Invest. 1998; Mathews, Infect Immunol. 1999)。

【0005】 hBD-1のmRNAは、歯肉の上皮細胞で構成的に発現されている (Krisanaprakornkit, Infect Immun. 1998)。反対に、hBD-2のmRNAは、歯肉上皮の培養細胞 (Weinberg, Crit. Rev. Oral Biol. Med. 1998) や唾液腺 (Bonass, Oral Microbiol. Immunol. 1999) で誘導的に発現されている。また、唾液中のhBD-2の濃度は約150 ng/mlであることが知られている (Mathews, Infect Immun. 1999)。以上のように、hBD-2については、その組織分布や発現レベルに関する種々の報告がなされている。

【0006】 ところで、近年虫歯や歯周病、肺炎等のレンサ球菌由来の疾病に対する関心が高まり、これらレンサ球菌群を、天然抗菌物質、特にヒト由来の抗菌物質を用いて殺菌等するための研究が数多くなされている。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、これまでのところ、有効な抗菌物質はほとんど見出されていない。

【0008】 したがって、本発明は、レンサ球菌群に対して有効な抗菌活性を示すヒト由来の抗菌剤、及びかかる抗菌剤を用いたレンサ球菌群の殺菌方法を提供することを目的とする。

## 【0009】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意研究した結果、抗菌性ペプチドがレンサ球菌群に対して有効な抗菌活性を示すこと、さらに、プロテアーゼ阻害剤を併用することにより、抗菌スペク

トルが拡大することを見出し、本発明を完成した。

【0010】すなわち、請求項1記載の発明は、抗菌性ペプチドを有効成分とするレンサ球菌群に対する抗菌剤である。請求項2記載の発明は、レンサ球菌群が、肺炎レンサ球菌、化膿レンサ球菌、蝕蝕原性レンサ球菌、ストレプトコッカス・ゴールドニイ (*Streptococcus gordonii*)、ストレプトコッカス・サンギウス (*S. sanguis*)、ストレプトコッカス・クリセトゥス (*S. cricetus*)、ストレプトコッカス・ラトゥス (*S. rattus*)、ストレプトコッカス・サリバリウス (*S. salivarius*) からなる群より選ばれる1種以上である請求項1記載の抗菌剤である。請求項3記載の発明は、抗菌性ペプチドが、ヒトβ-ディフェンシン-2である請求項1又は2記載の抗菌剤である。請求項4記載の発明は、さらに、プロテアーゼ阻害剤を含有する請求項1〜3のいずれか1項記載の抗菌剤である。請求項5記載の発明は、プロテアーゼ阻害剤が、セリンプロテアーゼインヒビターである請求項4記載の抗菌剤である。請求項6記載の発明は、請求項1〜5のいずれか1項記載の抗菌剤を用いることを特徴とするレンサ球菌群の殺菌方法である。請求項7記載の発明は、請求項4又は5記載の抗菌剤を用いることを特徴とするストレプトコッカス・アンギノサス (*S. anginosus*)、ストレプトコッカス・コンステラータス (*S. constellatus*)、ストレプトコッカス・インターメディアウス (*S. intermedius*) 又はストレプトコッカス・ミティス (*S. mitis*) の殺菌方法である。

【0011】

【発明の実施の形態】hBD-2が口腔粘膜や唾液中に存在することは従来から知られていたが、かかるhBD-2等の抗菌性ペプチドが蝕蝕原性レンサ球菌、肺炎レンサ球菌、化膿レンサ球菌等のレンサ球菌群に対して有効な抗菌活性を示すことは、全く知られていなかった。さらに、プロテアーゼ阻害剤を併用すれば、抗菌スペクトルが拡大することは全く知られていなかった。

【0012】抗菌性ペプチドとしては特に制限はないが、ヒト由来のものであることが好ましく、従来から知られている各種のヒト抗菌性ペプチドを挙げることができる。このうち、ヒトβ-ディフェンシン-2 (hBD-2) が好ましい。かかる抗菌性ペプチドは、ヒトの唾液、口腔粘膜等から常法に従って精製することができる。また、化学合成法により合成することも可能である。さらに、遺伝子工学的手法を用いて合成、精製することも可能である。

【0013】本発明に用いられる抗菌性ペプチドは、広範な種類の微生物やウイルス、例えばカビ、細菌(グラム陽性菌、グラム陰性菌のいずれも含む)等に起因する感染症、皮膚病、消化器系炎症、歯周病等の予防、治療に有効であるが、レンサ球菌群に対する抗菌作用により優れており、肺炎レンサ球菌、化膿レンサ球菌、蝕蝕原性レンサ球菌、ストレプトコッカス・ゴールドニイ、スト

レプトコッカス・サンギウス、ストレプトコッカス・クリセトゥス、ストレプトコッカス・ラトゥス、ストレプトコッカス・サリバリウスに対する抗菌作用に特に優れている。

【0014】抗菌性ペプチドは、製薬学的に許容される塩の形態で用いることもできる。かかる塩としては、塩酸塩、硝酸塩、臭化水素酸塩等の無機酸塩；p-トルエンスルホン酸塩、メタスルホン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、乳酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。

10 【0015】本発明の抗菌剤は、かかる抗菌性ペプチドを有効成分として含有するものであるが、さらにプロテアーゼ阻害剤を含有することにより、抗菌スペクトルがさらに拡大する。プロテアーゼ阻害剤を含有することにより、効果が向上する原因は、必ずしも明確ではないが、プロテアーゼ阻害剤によって微生物のプロテアーゼ活性が阻害され、抗菌性ペプチドが分解され難くなり、その結果、抗菌性ペプチド、特にhBD-2に対する微生物の感受性が高まるためではないか、と推測される。プロテアーゼ阻害剤のうち、セリンプロテアーゼインヒビターがより好ましく、アミノエチルベンゼンスルホニルフルオリド (AEBSF)、トシルフェニルアラニンクロロメチルケトン (TPCK)、フェニルメチルスルホニルフルオリド (PMSF) 及び3, 4-ジクロロイソクマリン (3, 4-DCI) が特に好ましい。

【0016】本発明の抗菌剤は、医薬組成物又は食品の形態として使用することができる。医薬組成物は、医薬品、医薬部外品のいずれも含む。これらは、常法により錠剤、顆粒剤、粉末剤、ゲル、カプセル剤、懸濁剤、注射剤、坐剤、液剤、外用剤等の種々の剤型とすることができる。これらの医薬組成物は、抗菌性ペプチド又はその製薬学的に許容される塩に、必要に応じてプロテアーゼ阻害剤、さらに製薬学的に許容される担体を配合して製造することができる。

40 【0017】具体的には、固形製剤の場合は、抗菌性ペプチド等に、必要に応じて賦形剤、結合剤、崩壊剤、増量剤、被覆剤、糖衣剤等を加え、常法により製造することができる。あるいはリボソーム等で抗菌性ペプチド等を包接した製剤形態とすることもできる。液体製剤の場合は、様々な塩及び緩衝剤によって緩衝化された溶液、懸濁液、乳濁液等の形態とすることができる。塩としては、アルカリもしくはアルカリ土類ハロゲン化物、リン酸塩、又は硫酸塩、例えば塩化ナトリウム、塩化カリウム、又は硫酸ナトリウム等が挙げられる。緩衝剤としては、例えばクエン酸塩、リン酸塩、HEPES、トリス等を、この種の緩衝剤が処置される対象に、生理学的に許容され得る程度で使用することができる。注射剤の場合は、抗菌性ペプチド等を、注射用蒸留水等の水性担体に予め溶解、分散、乳化等して注射用液剤とするか、または注射用粉末にして用時に溶解すればよい。

50 【0018】投与方法に特に制限はなく、医薬組成物の

形態及び投与対象の性状等に応じて、種々の様式で投与することができる。例えば、経口、静脈内、皮下、経皮、筋肉内、腹膜内、鼻咽頭等投与が可能である。

【0019】食品の場合は、ジュース、お茶等の飲料；うどん、そば、トウフ、カマボコ、ゼリー等のゲル状食品等任意の形態の食品とすることができる。これらは、各食品の原料に抗菌性ペプチド等を添加し、常法にしたがって製造することができる。

【0020】本発明の抗菌剤の投与量は、投与形態、投与対象の年齢、性別、体重、病状等にもよるが、一般に成人1日当たり、100 $\mu$ g～100gが好ましく、1mg～10gが特に好ましい。投与回数は、1日当たり1回～数回が好ましい。また、プロテアーゼ阻害剤を併用する場合は、プロテアーゼ阻害剤を一般に成人1日当たり、100 $\mu$ g～100g、特に1mg～10g投与することが好ましい。

#### \*【0021】

【実施例】以下、本発明を実施例により説明するが、本発明は、これら実施例に限定されるものではない。

#### 【0022】実施例1：抗菌活性の測定

レンサ球菌群に対するhBD-2の抗菌試験

0.02-0.06 OD<sub>620</sub> unitのレンサ球菌群をリン酸バッファ-アガロース中に懸濁し、約1mmの厚さにまき、冷却後直径約3mmの穴をあけ、0-250 $\mu$ g/mlのhBD-2を4.5 $\mu$ l加え、37℃で3時間培養した後2 x TSB agaroseを重層し、さらに15～18時間37℃で嫌気培養した後、プレート上の阻止円の大きさを測定した。比較方法として、阻止円の半径と濃度の関係をプロットし、得られた近似式から阻止円の直径が4.0mmとなる濃度を算出した。レンサ球菌群に対するヒトhBD-2の抗菌効果を表1に示す。

#### 【0023】

#### 【表1】

種 株		hBD-2 濃度 ( $\mu$ g/ml)	
対照	<i>Escherichia coli</i> IFO 15044		2.11
	<i>Staphylococcus aureus</i>		83.8
anginosus (milleri) group	<i>Streptococcus anginosus</i> ATCC 33397	T	157
	<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823	T	110
	<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC 27335	T	437
mitis group	<i>Streptococcus gordonii</i> ATCC 10558	T	3.95
	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 6249		阻止円形成せず
	<i>Streptococcus mitis</i> GTC 495	T	163
	<i>Streptococcus oralis</i> GTC 276	T	19.0
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> GTC 261	T	10.0
	<i>Streptococcus sanguis</i> ATCC 10556	T	5.98
mutans group	<i>Streptococcus cricetus</i> ATCC 19642	T	3.15
	<i>Streptococcus downei</i> ATCC 33748		51.8
	<i>Streptococcus ferus</i> ATCC 33477	T	21.7
	<i>Streptococcus macacae</i> ATCC 35911	T	49.0
	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	T	7.83
	<i>Streptococcus mutans</i> MT8148		19.5
	<i>Streptococcus rattus</i> ATCC 19645	T	5.41
	<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 33478	T	5.72
	<i>Streptococcus sobrinus</i> 6715		8.66
pyogenic group	<i>Streptococcus agalactiae</i> GTC 1234	T	36.6
	<i>Streptococcus pyogenes</i> GTC 262	T	4.74
salivarius group			
	<i>Streptococcus salivarius</i> ATCC 9759		3.51

【0024】アンギノサスグループ3株とストレプトコッカス・ミティスの2株は、hBD-2に対して耐性を持つことが明かとなった。また、腐蝕原性球菌であるストレ

※プトコッカス・ミュータンス (*S. mutans*) とストレプトコッカス・ソブリヌス (*S. sobrinus*) 及び化膿レンサ球菌 (*S. pyogenes*)、肺炎球菌 (*S. pneumoniae*) は、

hBD-2に対して感受性があることがわかった。さらに、ストレプトコッカス・ゴールドニイ、ストレプトコッカス・サンギウス、ストレプトコッカス・クリセトゥス、ストレプトコッカス・ラトゥス、ストレプトコッカス・サリバリウスは、hBD-2に対して感受性があることがわかった。

【0025】実施例2：ストレプトコッカス・アンギノーサスとストレプトコッカス・ミティスに対する微生物由来プロテアーゼ阻害試験

実施例1の実験系に対して菌を懸濁したリン酸バッファアガロース中に、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶かした15種のプロテアーゼ阻害剤(アンチバイン、アマスタチン、アプロチニン、ベスタチン、キモスタチン、3,4-ジクロロイソクマリル(3,4,-DCI)、E-64、EDTA、ロイヒスチン、ロイペプチン、AEBSF、ペプスタチン、ホスホラミドン、トリプシンインヒビター、TPCK)を10nM-10mMの濃度で、加え、微生物由来のプロテアーゼ活性を阻害した。それ以外は実施例1と同じ条件で実験を行った。DMSOのみを加えたものを対照とした。菌はストレプトコッカス・アンギノーサスとストレプトコッカス・ミティスを用いた。結果を図1～図32に示す。ここで、unitとは、阻止円の直径から3mmを引いた大きさ(mm)の10倍である。

【0026】15種類のプロテアーゼインヒビターを各至適濃度で用いたところ、セリンプロテアーゼインヒビターである3,4-DCI、AEBSFを用いたときにストレプトコッカス・アンギノーサスとストレプトコッカス・ミティス菌の抵抗性が著しく低下した。また、TPCKを用いるとストレプトコッカス・アンギノーサス菌のみ抵抗性が著しく低下した。ストレプトコッカス・アンギノーサスとストレプトコッカス・ミティス菌のhBD-2に対する抵抗性は、プロテアーゼによる蛋白分解性の活性であることがわかった。菌由来のプロテアーゼ活性によってhBD-2の抗菌活性が押さえられていたものを、プロテアーゼインヒビターによって抗菌効果を高めることができた。

【0027】

【発明の効果】本発明の抗菌剤は、ヒト由来の抗菌性ペプチドを有効成分とするものであり、レンサ球菌群、特に肺炎レンサ球菌、化膿レンサ球菌、蝕肉性レンサ球菌等に対して優れた抗菌効果を示す。また、プロテアーゼ阻害剤を併用することによって、抗菌スペクトルを拡大することができる。本発明の抗菌剤は、生体防御の強化、各種疾患の治療に有効である。

【図面の簡単な説明】

【図1】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2の効果を示す図である。

【図2】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とアンチペインとの併用効果を示す図である。

【図3】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対する

hBD-2とアマスタチンとの併用効果を示す図である。

【図4】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とアプロチニンとの併用効果を示す図である。

【図5】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とベスタチンとの併用効果を示す図である。

【図6】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とキモスタチンとの併用効果を示す図である。

【図7】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2と3,4-DCIとの併用効果を示す図である。

【図8】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とE-64との併用効果を示す図である。

【図9】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とEDTAとの併用効果を示す図である。

【図10】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とロイヒスチンとの併用効果を示す図である。

【図11】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とロイペプチンとの併用効果を示す図である。

【図12】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とAEBSFとの併用効果を示す図である。

【図13】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とペプスタチンとの併用効果を示す図である。

【図14】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とホスホラミドンとの併用効果を示す図である。

【図15】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とトリプシンインヒビターとの併用効果を示す図である。

【図16】 ストレプトコッカス・アンギノーサスに対するhBD-2とTPCKとの併用効果を示す図である。

【図17】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2の効果を示す図である。

【図18】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とアンチペインとの併用効果を示す図である。

【図19】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とアマスタチンとの併用効果を示す図である。

【図20】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とアプロチニンとの併用効果を示す図である。

【図21】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とベスタチンとの併用効果を示す図である。

【図22】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とキモスタチンとの併用効果を示す図である。

【図23】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2と3,4-DCIとの併用効果を示す図である。

【図24】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とE-64との併用効果を示す図である。

【図25】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2と3,4-DCIとの併用効果を示す図である。

【図26】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とE-64との併用効果を示す図である。

【図27】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とE-64との併用効果を示す図である。

【図28】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhBD-2とE-64との併用効果を示す図である。

D-2とEDTAとの併用効果を示す図である。

【図26】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhB D-2とロイヒスチンとの併用効果を示す図である。

【図27】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhB D-2とロイペプチンとの併用効果を示す図である。

【図28】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhB D-2とAEB SFとの併用効果を示す図である。

【図29】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhB

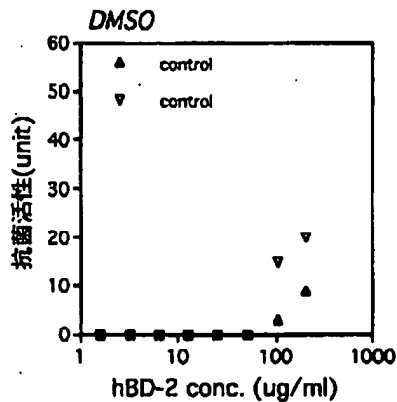
D-2とペプスタチンとの併用効果を示す図である。

【図30】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhB D-2とホスホラミドンとの併用効果を示す図である。

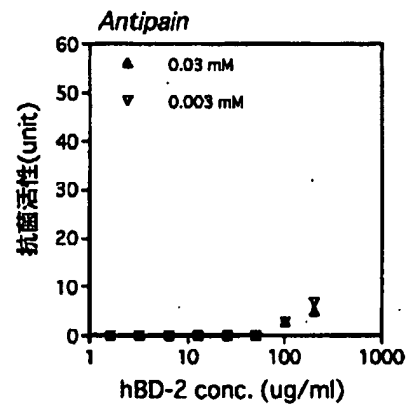
【図31】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhB D-2とトリアシンインヒビターとの併用効果を示す図である。

【図32】 ストレプトコッカス・ミティスに対するhB D-2とTPCKとの併用効果を示す図である。

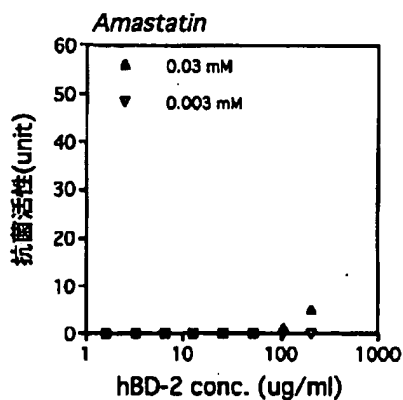
【図1】



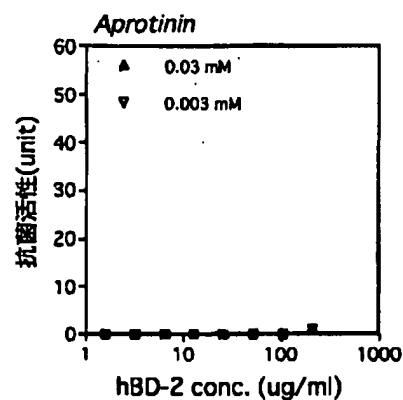
【図2】



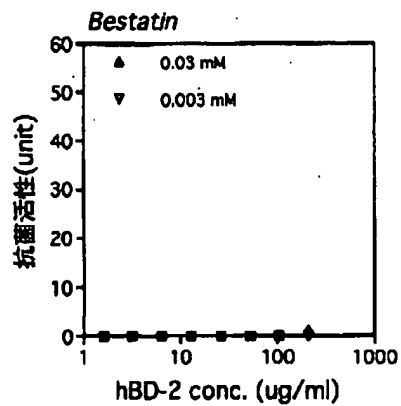
【図3】



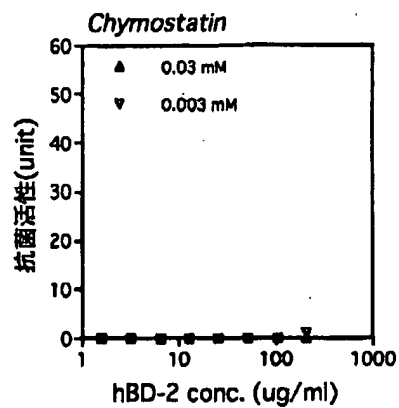
【図4】



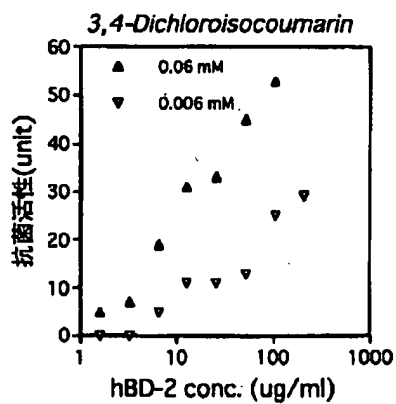
【図5】



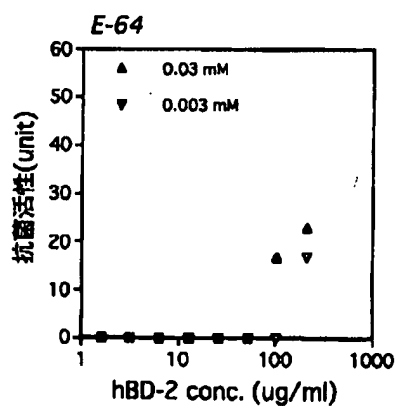
【図6】



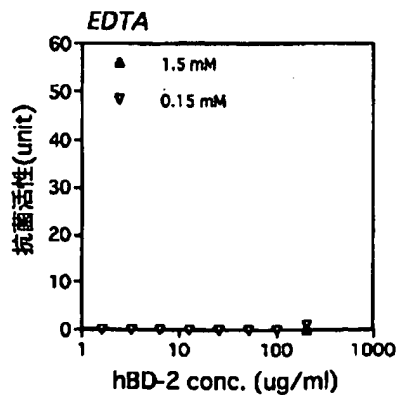
【図7】



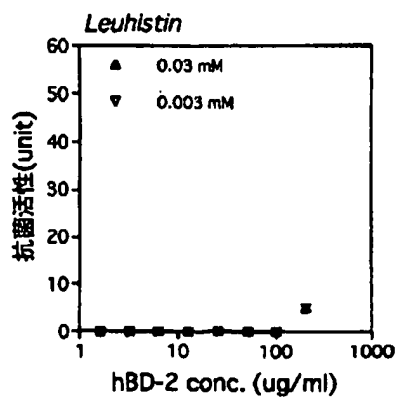
【図8】



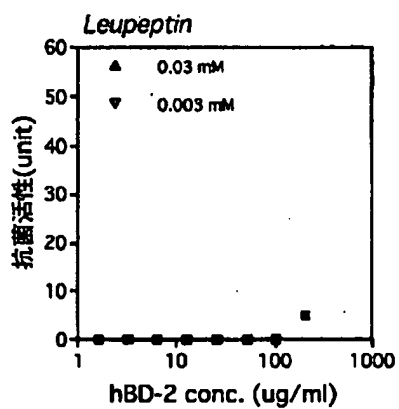
【図9】



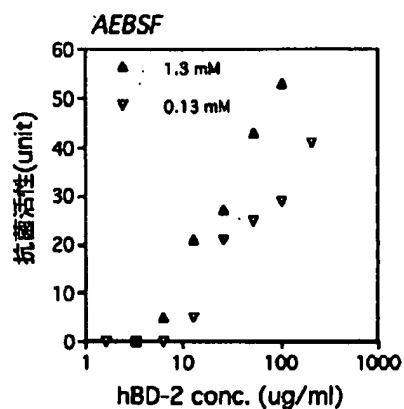
【図10】



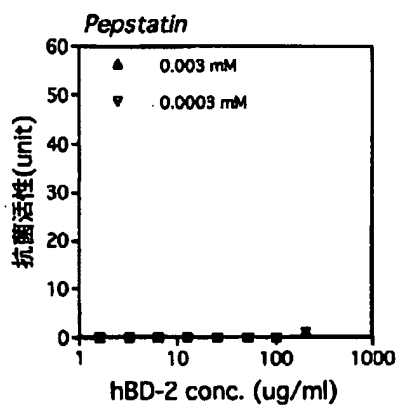
【図11】



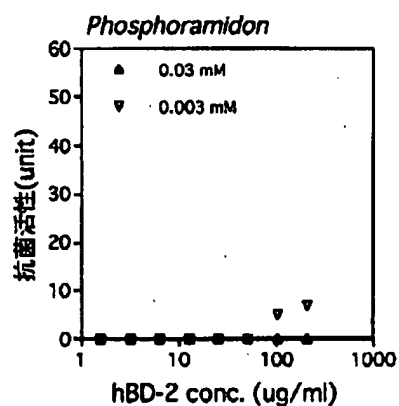
【図12】



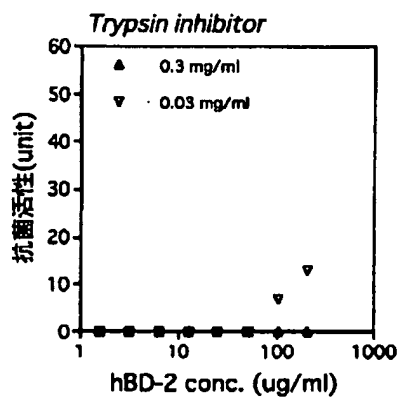
【図13】



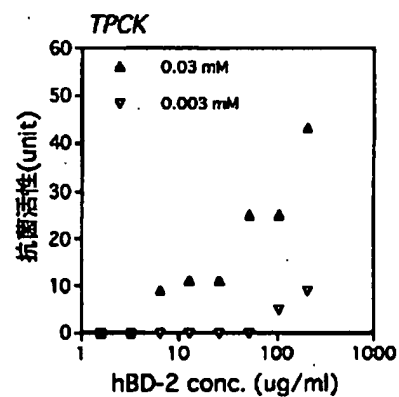
【図14】



【図15】

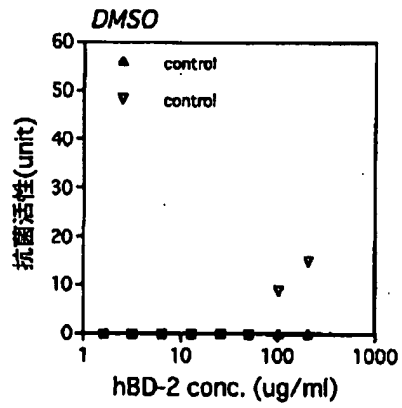


【図16】

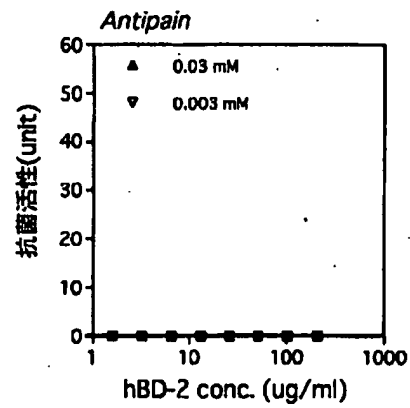




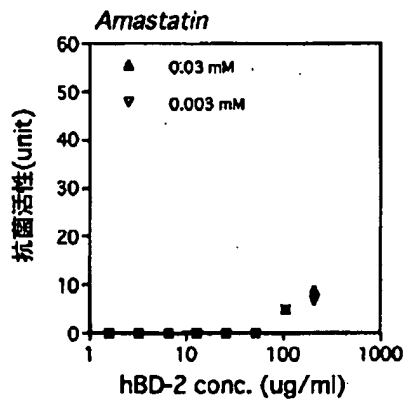
【図17】



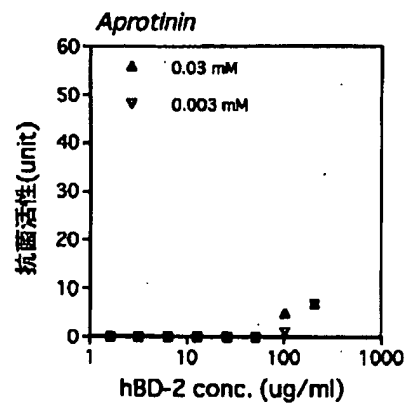
【図18】



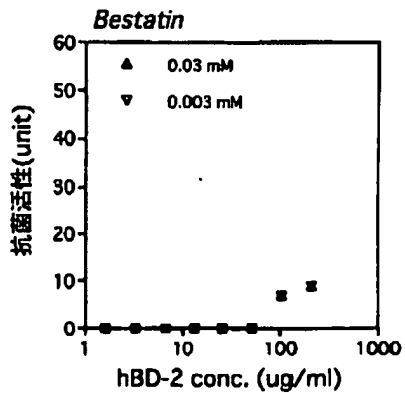
【図19】



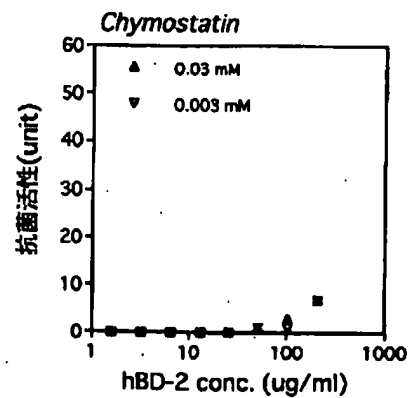
【図20】



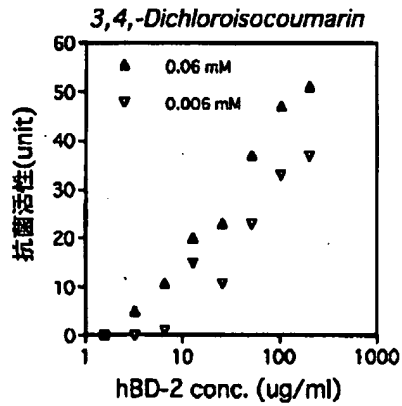
【図21】



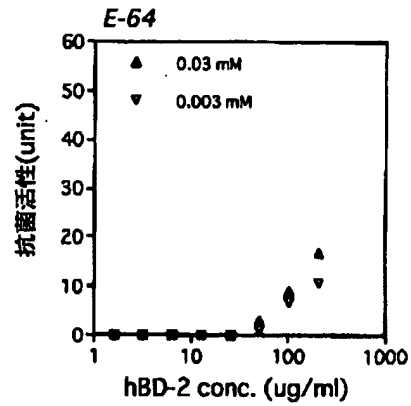
【図22】



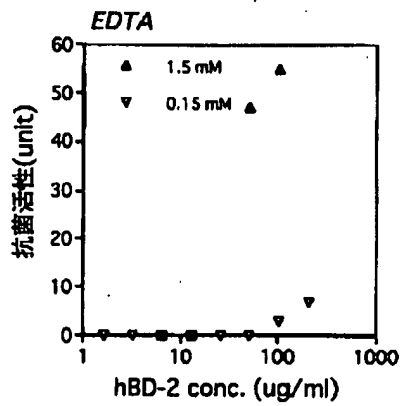
【図23】



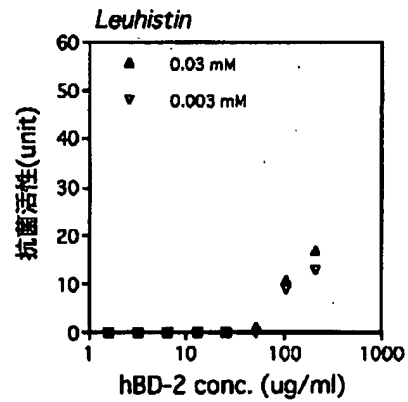
【図24】



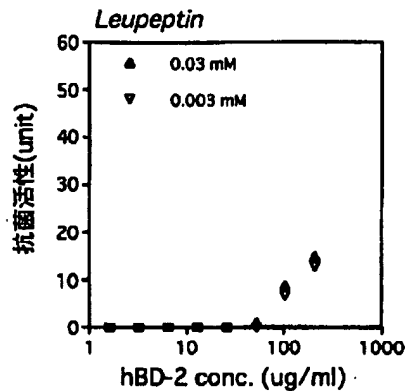
【図25】



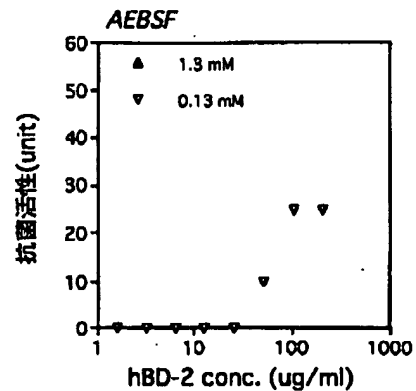
【図26】



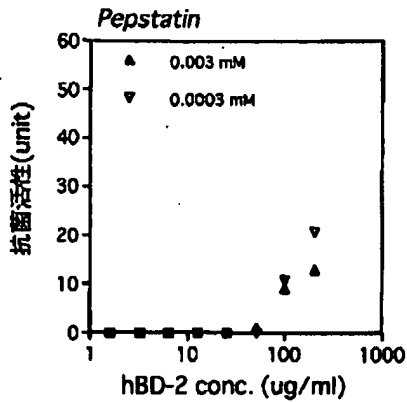
【図27】



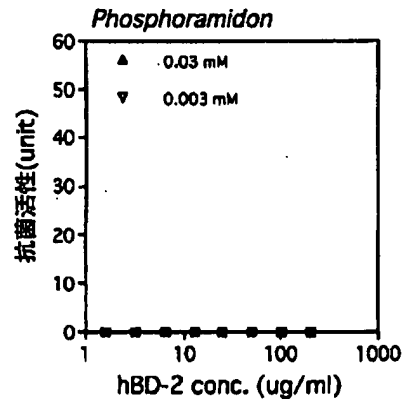
【図28】



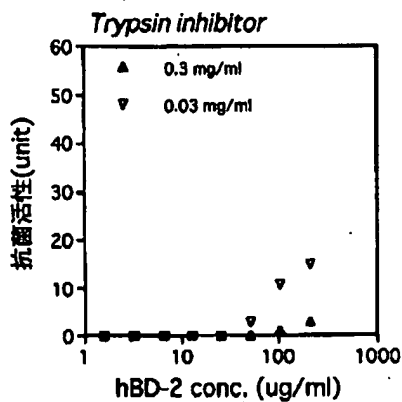
【図29】



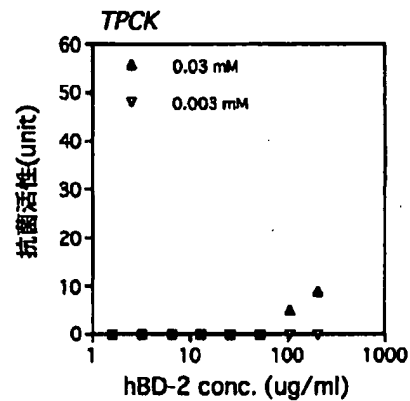
【図30】



【図31】



【図32】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーム(参考)
A 61 P 31/04		A 61 P 43/00	1 1 1
43/00	1 1 1	A 61 K 37/02	
(72)発明者 江藤 亜紀子		(72)発明者 西澤 俊樹	
東京都新宿区戸山一丁目二十三番一号 国		東京都新宿区戸山一丁目二十三番一号 国	
立感染症研究所内		立感染症研究所内	
(72)発明者 今井 奨		(72)発明者 花田 信弘	
東京都新宿区戸山一丁目二十三番一号 国		東京都新宿区戸山一丁目二十三番一号 国	
立感染症研究所内		立感染症研究所内	
		Fターム(参考) 4C084 AA02 AA17 CA18 DC32 NA14	
		ZA661 ZA671 ZA891 ZB351	
		ZC202	

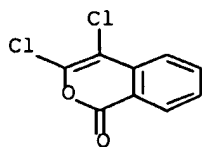
L20 ANSWER 8 OF 48 HCAPLUS COPYRIGHT 2007 ACS on STN  
 ACCESSION NUMBER: 2002:284646 HCAPLUS Full-text  
 DOCUMENT NUMBER: 136:306664  
 TITLE: Antistreptococcal agents containing  
 bactericidal  
 peptides and sterilization of streptococci  
 INVENTOR(S): Nishimura, Eisaku; Kato, Masatoshi; Etou,  
 Akiko; Imai,  
 Susumu; Nishizawa, Toshiki; Hanada, Nobuhiro  
 PATENT ASSIGNEE(S): Morinaga and Co., Ltd., Japan  
 SOURCE: Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 11 pp.  
 CODEN: JKXXAF  
 DOCUMENT TYPE: Patent  
 LANGUAGE: Japanese  
 FAMILY ACC. NUM. COUNT: 1  
 PATENT INFORMATION:

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
JP 2002114704	A	20020416	JP 2000-300693	
20000929 <--				
PRIORITY APPLN. INFO.: 20000929			JP 2000-300693	

AB Streptococci are sterilized using agents containing antibacterial peptides such as human  $\beta$ -defensin-2 and optionally protease inhibitors. The antistreptococcal agents are useful as pharmaceuticals and as food additives. Human  $\beta$ -defensin-2 inhibited growth of Streptococcus gordonii, S. cricetus, S. pyogenes, etc. Combined use of 3,4-dichloroisocoumarin (serine protease inhibitor) enhanced antibacterial activity of human  $\beta$ -defensin-2 on S. anginosus and S. mitis.

IT 51050-59-0, 3,4-Dichloroisocoumarin  
 RL: PAC (Pharmacological activity); THU (Therapeutic use); BIOL (Biological study); USES (Uses)  
 (antistreptococcal agents containing bactericidal peptides and optionally protease inhibitors)

RN 51050-59-0 HCAPLUS  
 CN 1H-2-Benzopyran-1-one, 3,4-dichloro- (CA INDEX NAME)



PAT-NO: JP02002114704A  
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 2002114704 A  
TITLE: ANTIBACTERIAL AGENT  
PUBN-DATE: April 16, 2002

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
NISHIMURA, EISAKU	N/A
KATO, MASATOSHI	N/A
ETO, AKIKO	N/A
IMAI, SUSUMU	N/A
NISHIZAWA, TOSHIKI	N/A
HANADA, NOBUHIRO	N/A

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
MORINAGA & CO LTD	N/A

APPL-NO: JP2000300693  
APPL-DATE: September 29, 2000

INT-CL (IPC): A61K038/00, A61K045/00 , A61P001/00 ,  
A61P001/02 , A61P017/00  
                  , A61P031/04 , A61P043/00

ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an antibacterial agent derived from human and exhibiting effective antibacterial action against dental bacteria causing dental caries and periodontosis, etc., and provide a bactericidal method using

the antibacterial agent.

SOLUTION: The antibacterial agent against streptococci contains an antibacterial peptide as an active component. The method for exterminating streptococci comprises the use of the antibacterial agent.

COPYRIGHT: (C)2002, JPO

DERWENT-ACC-NO: 2002-593403

DERWENT-WEEK: 200264

COPYRIGHT 2007 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Antimicrobial agent, useful for  
treating and preventing  
infection caused by Streptococcus  
group, fungi and virus  
e.g. dermatosis or periodontal  
disease, comprises  
antimicrobial peptide as active  
ingredient

PRIORITY-DATA: 2000JP-0300693 (September 29, 2000)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PAGES	PUB-DATE	MAIN-IPC
LANGUAGE			
<b>JP 2002114704 A</b>		April 16, 2002	N/A
011	A61K 038/00		

INT-CL (IPC): A61K038/00, A61K045/00 , A61P001/00 ,  
A61P001/02 ,  
A61P017/00 , A61P031/04 , A61P043/00

ABSTRACTED-PUB-NO: JP2002114704A

BASIC-ABSTRACT:

NOVELTY - An antimicrobial agent (I), with respect to  
Streptococcus group,  
comprises an antimicrobial peptide an active ingredient.

DETAILED DESCRIPTION - An INDEPENDENT CLAIM is included for  
sterilization of  
Streptococcus group using antimicrobial agent.

ACTIVITY - Antibacterial; virucide; fungicide;

dermatological;  
anti-inflammatory.

The antibacterial activity of hBD-2 with respect to Streptococcus group was evaluated by suspending Streptococcus (0.02-0.06 unit) in phosphoric buffer agarose plate. 0-250  $\mu$ g/ml of hBD-2 (4.5  $\mu$ l) was added to the agarose.

Various types protease inhibitors were also added to the agarose plate. The above medium was cultivated in anaerobic condition at 37 deg. C for 15-18 hours. The size of inhibition circle on the plate was measured.

Results showed that the Streptococcus group were sensitive against hBD-2 peptide. The Streptococcus group resistant to hBD-2, were effectively reduced by adding protease inhibitor.

MECHANISM OF ACTION - Protease inhibitor.

USE - (I) is used for treating and preventing infectious diseases caused by Streptococcus pneumonia, S.suppurative, S.gordonii, S.sanguis, S.chestnut cricetus, S.rattus, S.salivarius, dental caries originated from Streptococcus, S.anginosus, S.constellatus, S.intermedius (claimed), virus, fungi, gram positive and gram negative bacteria e.g. dermatosis, digestive system inflammation or periodontal disease.

(I) can also be used in foodstuff or beverages.

ADVANTAGE - The antimicrobial agent containing peptide derived from humans shows an effective antimicrobial activity to the Streptococcus group.